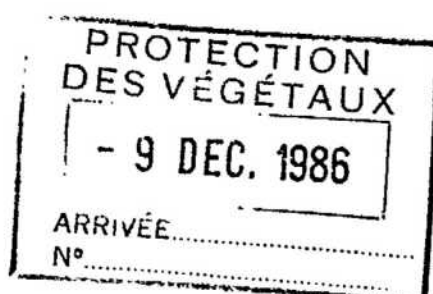


MINISTERE DE L'AGRICULTURE

SERVICE REGIONAL DE LA
PROTECTION DES VEGETAUX

1986



PHOMOPSIS
DU
TOURNESOL

RAPPORTEUR : J. COSTE
S.R.P.V. MIDI-PYRENEES

Ce document ne peut être communiqué qu'après la réunion de bilan, moyennant les corrections apportées et après accord de l'Administration Centrale.

RESULTATS BRUTS DES FICHES D'ENQUETE

1.- ZONE SUD-OUEST

Nbre de parcelles observées	Nbre de parcelles touchées	%
341	103	30,20

2.- ZONE SUD-EST

201	23	11,44
-----	----	-------

3.- AUTRES REGIONS

- Ile de France	30	0	0
- Auvergne	115	0	0
- Poitou Charentes	193	0	0

Quelques cas isolés ont été signalés en Pays-de-la-Loire et en Alsace.

L'IMPORTANCE DE L'ATTAQUE

Les niveaux d'attaques les plus importants se situent essentiellement dans la Haute-Garonne et l'Aude.

Pour le Sud-Ouest, l'enquête permet de déterminer une "zone à risque" où la maladie est constatée dans la moitié des champs.

1. OBJET DE L'EXPERIMENTATION

Déterminer les périodes de contaminations.
Tester l'efficacité de deux spécialités fongicides.

2. PRODUITS EXPERIMENTES

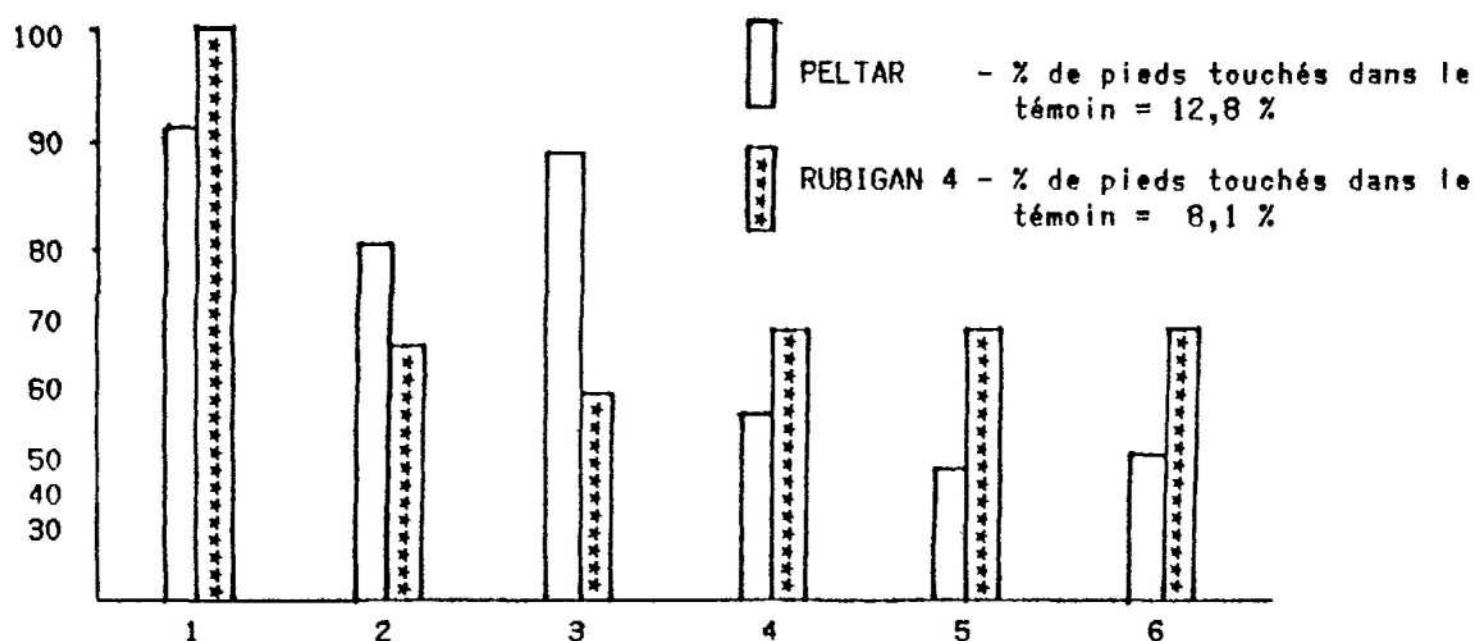
PELTAR 3 kg/ha
RUBIGAN 4 3 l/ha

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

Conditions	Dates de traitements et stades du tournesol						Nombre de traitements
	11/06	20/06	01/07	10/07	21/07	01/08	
	10/12 F.	12/20 F.	E 1	E 4	F 2	F 3 - F 5	
1	X	X	X	X	X	X	6
2		X	X	X	X	X	5
3			X	X	X	X	4
4				X	X	X	3
5					X	X	2
6						X	1

4. RESULTATS

% DE REDUCTION PAR RAPPORT AU TEMOIN



5. CONCLUSIONS

Les conditions de l'année n'ont pas permis d'atteindre les buts recherchés. Les pluies de début août (le 03/08 = 11,5 mm - le 10-11/08 = 14,9 mm) semblent avoir assuré l'essentiel des contaminations qui sont restées d'un niveau très faible.

I. SYMPTOMATOLOGIE

Les observations effectuées ont porté surtout sur les manifestations visuelles de la maladie tant sur feuilles que sur tiges.

II. EPIDEMIOLOGIE

En laboratoire, les conditions de maturation des périthèces et les projections d'ascospores ont été suivies en fonction de différents paramètres.

III. ESSAIS DE CONTAMINATIONS ARTIFICIELLES

Recherche d'une méthode pour l'obtention de suspensions d'ascospores devant servir à des contaminations artificielles

Etude sur les durées d'incubation de la maladie.

IV. SCREENING DE PRODUITS SUR MILIEU GELOSE

Aucune méthode fiable n'a pu être mise en évidence.

PLAN DU RAPPORT

Pages

PARTIE I - BILAN DE L'ENQUETE

1. Résultats bruts	1
2. Importance de l'attaque	3
3. Gravité de l'attaque	4
4. Influence du facteur climatique dans le Sud-Ouest	5
5. Influence des facteurs agronomiques	5

<u>CONCLUSION</u>	6
-------------------	---

Annexe 1
Annexe 2
Annexe 3

PARTIE II - ESSAI METHODES DE LUTTE

1. Objectifs	7
2. Produits expérimentés	7
3. Plan de l'essai	7
4. Conditions expérimentales	7
5. Localisation de l'essai	8
6. Conditions culturales	8
7. Conditions de réalisation des traitements	8
8. Conditions climatiques	9
9. Résultats	9
10 Interprétation des résultats	9

Annexe 1

PARTIE III - ETUDES DE LABORATOIRE

I. Symptomatologie	10
II. Epidémiologie	11
III. Essais de contaminations artificielles	13
IV. Screening de produits sur milieu gélosé	16
<u>CONCLUSION</u>	17

PARTIE I

BILAN DE L'ENQUETE

1.- RESULTATS BRUTS (dépouillement des fiches d'enquête)

1.1. Sud-Ouest P.V. - C.E.T.I.O.M.

	Nbre de parcelles observées	Nbre de parcelles touchées	%
	341	103	30,20
Détail par Département			
- Haute-Garonne	99	41	
- Aude	84	41	
- Tarn	36	13	
- Lot-et-Garonne	70	4	
- Gers	27	1	
- Autres Sud-Ouest	25	3	

1.2. Sud-Est C.E.T.I.O.M.

	Nbre de parcelles observées	Nbre de parcelles touchées	%
	201	23	11,44
Détail par Département			
- Alpes-de-Htes-Provence	7	0	
- Bouches-du-Rhône	30	6	
- Gard	27	2	
- Hérault	7	2	
- Vaucluse	23	2	
- Ain	8	0	
- Ardèche	7	0	
- Drôme	58	8	
- Isère	30	3	
- Loire	4	0	

1.3. Reste de la France

Régions	Nbre de parcelles observées	Nbre de parcelles touchées
. Ile de France	30	0
dont :		
- Essonne	3	
- Yvelines	5	
- Val d'Oise	1	
- Seine-et-Marne	21	
. Auvergne	115	0
dont :		
- Puy-de-Dôme	59	
- Haute-Loire	6	
- Allier	50	
. Poitou-Charentes	193	0
dont :		
- Deux-Sèvres	65	
- Vienne	63	
- Charentes-Maritimes	49	
- Charentes	16	

pour les autres régions de France, quelques cas ont été signalés :

. Pays-de-la-Loire	4	4
dont :		
- Maine-et-Loire (région de BRISSAC)	3	3
- Vendée (commune de FOUSSAIS)	1	1
. Alsace	1	1
dont :		
- Bas-Rhin (commune de Griesheim près de MOLSHEIM)	1	1

Pour le Maine-et-Loire et le Bas-Rhin, le diagnostic Phomopsis du Tournesol est confirmé par les G.R.I.S.P. d'Angers et Colmar.

Dans la région de Brissac (85), il est vraisemblable que d'autres parcelles aient été contaminées car l'alerte n'a été donnée que très tardivement (12 septembre).

La Protection des Végétaux d'Angers signale 70 et 100 % de tiges cassées sur 2 des parcelles visitées. La maladie semble déjà y avoir été observée.

En Alsace il s'agirait de symptômes très limités n'ayant fait aucun dégât sur la parcelle.

Dans les autres régions, aucun cas de maladie n'est signalé à ce jour.

2.- IMPORTANCE DE L'ATTAQUE

2.1. Niveau d'attaque dans le Sud-Ouest

	attaque 0,1 à 4 %	> 4 %
Nbre de parcelles/département		
- Haute-Garonne	16	25
- Aude	27	14
- Tarn	7	6
- Ariège	2	0
- Gers	1	0
- Tarn-et-Garonne	1	0
- Lot-et-Garonne	4	0
- Autres départements Sud-Ouest	0	0
	maximum observé : 60 %	

2.2. Niveau d'attaque dans le Sud-Est

	attaque 0,1 à 4 %	> 4 %
Nbre de parcelles/département		
- Bouches-du-Rhône	2	4
- Gard	1	1
- Hérault	2	0
- Vaucluse	1	1
- Drôme	6	2
- Isère	2	1
	maximum observé : 12 %	

3.- GRAVITE DE L'ATTAQUE SUR TIGE

3.1. Sud-Ouest

	classe	1 (TNE)	2 (TE)	3 (TB)	4 (TC)
Départements					
- Haute-Garonne		15	16	10	0
- Aude		23	9	9	0
- Tarn		9	3	1	0
- Gers		1	0	0	0
- Ariège		1	1	0	0
- Tarn-et-Garonne		1	0	0	0
- Lot-et-Garonne		3	1	0	0
TOTAL		53	30	20	0

3.2. Sud-Est

	classe	1 (TNE)	2 (TE)	3 (TB)	4 (TC)
Départements					
- Bouches-du-Rhône		6	0	0	0
- Gard		1	1	0	0
- Hérault		2	0	0	0
- Vaucluse		2	0	0	0
- Drôme		7	1	0	0
- Isère		3	0	0	0
TOTAL		21	2	0	0

LEGENDE

TNE : Tâche non encerclante

TE : Tâche encerclante

TB : Tige Brune

TC : Tige Cassée

On remarquera qu'il n'y a aucun cas de tige cassée.

CONCLUSION

Pour le Sud-Ouest, l'enquête permet de déterminer une "zone à risque" où la maladie a été constatée dans la moitié des champs environ (cf. carte 1).

Pour l'ensemble Sud-Est et Sud-Ouest, l'attaque moyenne du Phomopsis est faible (code 3 : faible 1 - 5 %). La présence du champignon a néanmoins été constatée dans ces deux régions. Dans le reste de la France quelques cas isolés ont été signalés en Vendée, dans le Maine-et-Loire, et en Alsace.

4.- INFLUENCE DU FACTEUR CLIMATIQUE DANS LE SUD-OUEST

Les conditions météorologiques de l'année 1986 n'ont pas permis l'explosion Phomopsis que tout le monde redoutait.

Il y a eu peu d'évolution de la zone contaminée entre 1986 et 1985. Annexe 2

La sécheresse a constitué le frein majeur au développement de la maladie.

Dans le Sud-Ouest, les températures ont été légèrement supérieures aux normales saisonnières. Mais c'est surtout l'eau qui a constitué le facteur limitant. Les relevés de pluviométrie dans différents endroits du Lauragais et pour Toulouse montrent la comparaison 1986, normale sur 30 ans durant les 4 mois mai-juin-juillet-août (cf. graphique 3).

Cela prouve que la présence d'eau sur les feuilles est nécessaire pour qu'il y ait contamination.

Résumé du temps dans le Sud-Ouest de Mai à Août

Le début du mois de Mai a été suffisamment pluvieux pour permettre une première attaque faible du champignon (1 à 2 %) parfois au niveau même des cotylédons. Ce qui a alarmé très tôt les agriculteurs et techniciens de coopérative. Divers avis de traitement fongicide contre le Phomopsis ont alors été lancés.

Par la suite la sécheresse s'est installée (juin-juillet), stoppant par là même toute évolution de la maladie. Les tournesols ont alors principalement souffert de grillure.

Les quelques pluies de la fin août ont provoqué de nouvelles attaques tardives. Mais la surface foliaire des tournesols était alors en voie de dessèchement. Le champignon ne pouvait plus faire de dégâts.

5.- INFLUENCE DES FACTEURS AGRONOMIQUES

Il était prévu initialement un traitement statistique à partir des fiches d'enquête en vue de dégager les facteurs favorables ou défavorables au champignon. Celui-ci n'a finalement pas été réalisé vu les faibles taux d'attaque de maladie durant la campagne 1986.

Néanmoins, il reste comme cela avait été constaté en 1985, que les terres profondes humides, à proximité de ruisseaux, naturellement riches, tels que les fonds de vallées sont les endroits où la maladie s'est surtout développée.

La situation de la parcelle constitue donc le premier critère à prendre en compte.

- * L'effet de la fertilisation n'a pu être mis en évidence à partir de l'enquête.

- * La présence d'un trop grand nombre d'adventices (donc un mauvais désherbage) semble provoquer un confinement de la partie inférieure de la culture qui favorise le développement du champignon dans le tournesol. Les parcelles de fonds de vallées où la présence de prêles (*Equisetum arvense*) était importante ont constitué des endroits où le Phomopsis était présent.

- * L'impact de l'irrigation n'a pas pu être chiffrée mais semble bien être un facteur favorisant la maladie. Expérimentalement, des taux d'attaque de 54,7 % ont été observés sur une parcelle sous irrigation en contamination renforcée, alors que la parcelle voisine non irriguée n'était pas touchée. La présence de Phomopsis en côteaux n'a été observée que sur des parcelles irriguées.

- * Toutes les variétés françaises sont touchées indifféremment. (il ne paraît pas y avoir d'influence du binage sur la maladie. L'enquête ne permet pas de conclure.).

* La date de semis ne semble pas avoir eu d'incidence. Mais compte tenu des conditions climatiques de l'année (pluies d'avril), les semis de tournesol ont eu lieu dans le Sud-Ouest, plus tard que d'habitude. Cependant, plus le champignon attaque tôt, plus les dégâts sur le tournesol sont importants (risque de casse de tige).

* Facteur traitement

Aucune différence ne peut être mise en évidence. Le % de parcelles atteintes et saines est sensiblement égal aussi bien pour les parcelles traitées que pour celles non traitées.

* Localisation

On a constaté surtout des plantes malades isolées dans les parcelles.

CONCLUSION

Les taux d'attaque par *Phomopsis Helianthi* sont restés faibles pendant la campagne 1986 et la maladie n'a eu que peu ou pas d'incidence sur le rendement (peu de cas de tiges cassées).

L'efficacité des traitements n'a pu être mise en évidence.

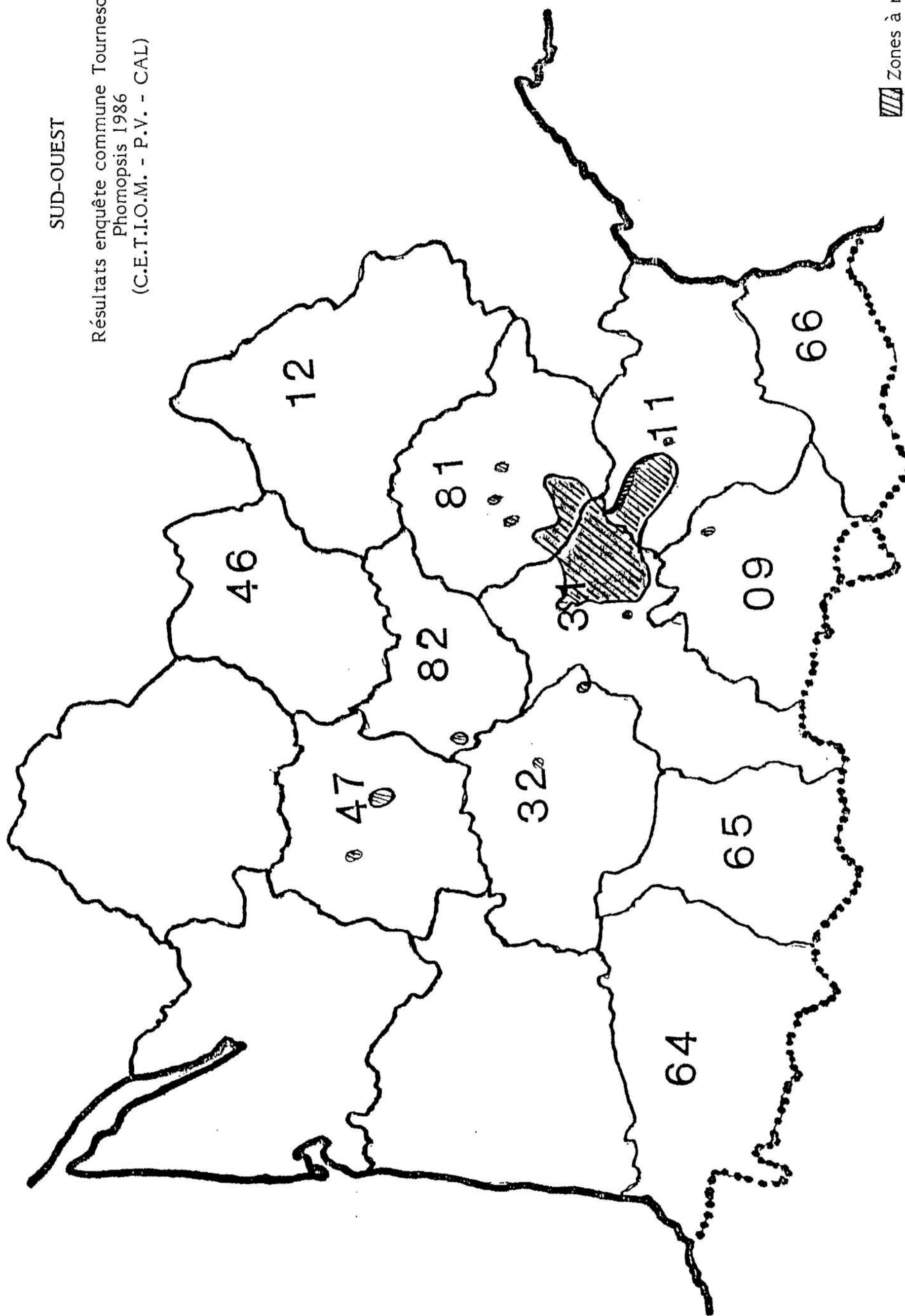
Néanmoins, le champignon est bien présent dans tout le Lauragais et semble-t-il dans d'autres endroits isolés de France.

En septembre où les pluies sont redevenues normales, on a observé dans les tournesols en dérobé des taux d'attaque allant de 80 à 100 % (avec présence de tiges cassées).

*
* *
*

SUD-OUEST

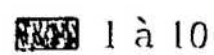
Résultats enquête commune Tournesol
Phomopsis 1986
(C.E.T.I.O.M. - P.V. - CAL)



ANNEXE I

 Zones à risque

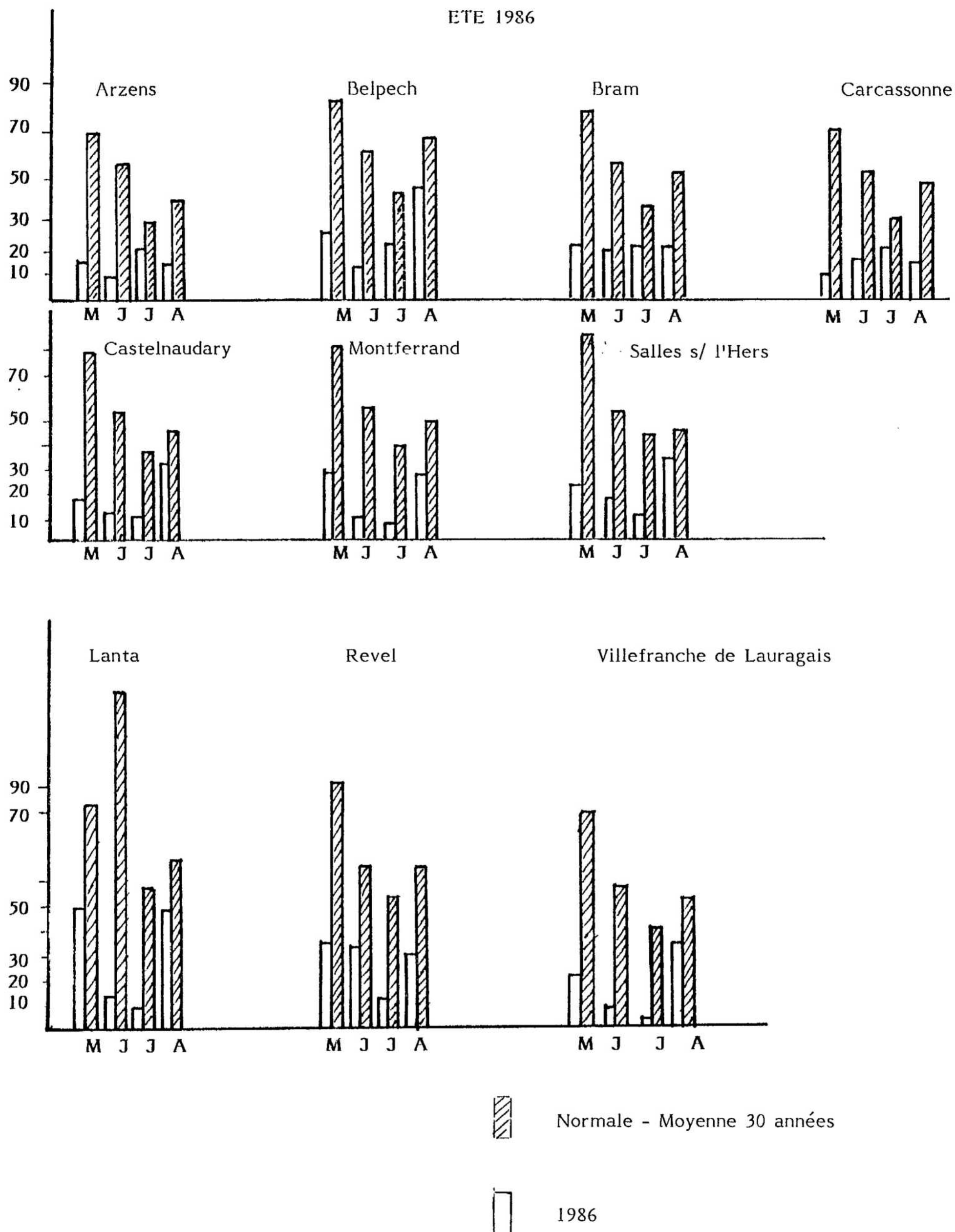
Nombre de parcelles touchées :



☐ pas d'enquête - aucun cas signalés au 30 Octobre 1986

PRECIPITATIONS MENSUELLES DANS LE LAURAGAIS

ETE 1986



PARTIE II

ESSAI DE METHODES DE LUTTE

PHOMOPSIS1. OBJECTIFS

Essayer de déterminer les périodes de contaminations.
Tester l'efficacité de deux spécialités fongicides.

2. PRODUITS EXPERIMENTES

Matière active	Teneur en %	Spécialité - Firme	Dose de P.C. /ha
manèbe + thiophanate méthyl	50 25	PELTAR PROCIDA	3 kg
fénarimol	40	RUBIGAN 4 PEPRO	3 l

3. PLAN DE L'ESSAI

20 m	RUBIGAN 4																				
	T1	T	T2	T3	T	T4	T5	T	T6	T7	T	T1	T	T2	T3	T	T4	T5	T	T6	T7
	PELTAR																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
3 rgs																					

4. CONDITIONS EXPERIMENTALES

Conditions	Dates de traitements et stades du tournesol						Nombre de traitements
	11/06	20/06	01/07	10/07	21/07	01/08	
	10/12 F.	12/20 F.	E 1	E 4	F 2	F 3 - F 5	
1	X	X	X	X	X	X	6
2		X	X	X	X	X	5
3			X	X	X	X	4
4				X	X	X	3
5					X	X	2
6						X	1

5. LOCALISATION DE L'ESSAI

Chez M. MENGARDUQUE - Le Mares -
31 AVIGNONNET-LAURAGAIS

Bloc 2 répétitions

6. CONDITIONS CULTURALES

Type de sol	Précédent	Variété	Semis		Fumure N.P.K.	Surface parcelle
			Date	kg/ha		
Argilo-calcaire	Blé	Cargi- sol	12/04	5 kg	70-100- 100	36 m ²

7. CONDITIONS DE REALISATION DES TRAITEMENTS

Date de traitement	Conditions météorologiques	Appareil de traitem.	Pression	Bouillie/ha	Stade de la culture
11/06	1/2 couvert - t° 18°C - vent d'ouest	VAN DER WEIG	2,5 bars	400 l	10-12 feuilles
20/06	clair - t° 25° vent Autan fort	"	"	"	12-20 feuilles
01/07	clair - t° 25° vent nul	"	"	"	E1 (étoilé)
10/07	clair - t° 25° vent d'ouest	"	"	"	E4
20/07	clair - t° 27° vent nul	"	"	"	F2
01/08	clair - t° 25° vent nul	"	"	"	F3-F5

Remarque

- Les deux premiers traitements sont effectués à l'aide d'une rampe. La pulvérisation est faite en passant au-dessus de la végétation.
- Pour les autres, on a utilisé une buse à 1 jet mais en passant sous les étages foliaires supérieurs.

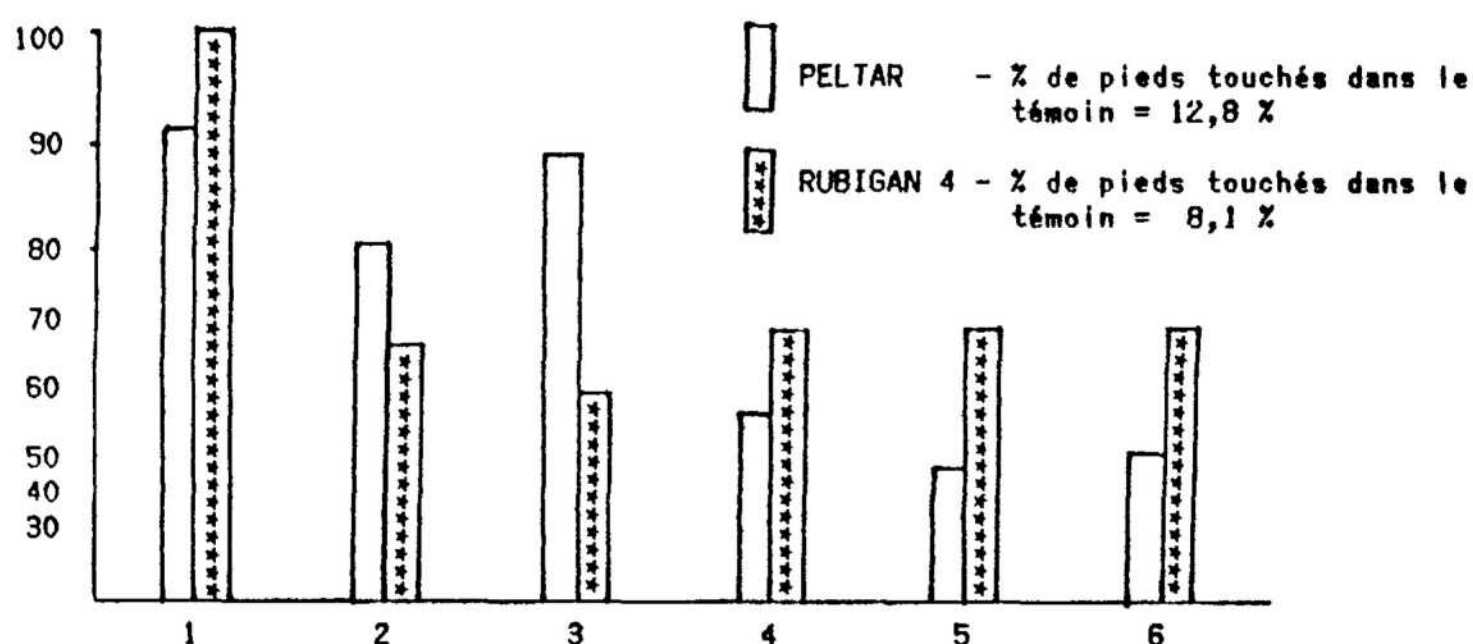
8. CONDITIONS CLIMATIQUES

Pluviométrie décadaire avant et après traitement (en mm)

Date de traitement	Décade avant traitement	Décade après traitement			Pluie cumulée
		1ère	2ème	3ème	
11/06	5,6	0	0	0	0
20/06	0	0	0	1,2	1,2
01/07	0	0	1,2	2,6	3,8
10/07	0	1,2	2,6	11,5	15,3
20/07	1,2	2,6	11,5	14,9	30,2
01/08	3,8	26,4	0	4,1	34,3

9. RESULTATS

Comptage effectué le 28 août 1986
% de réduction par rapport au témoin



10. INTERPRETATION DES RESULTATS

La parcelle retenue est située en plaine, sol profond mais non irrigué. Un apport d'inoculum (débris de cannes) a été effectué dans chaque parcelle. Les conditions de l'année n'ont pas permis d'atteindre les buts recherchés. Par manque de pluies (juin et juillet), il était difficile de cerner les contaminations.

Les pluies de début août (3 août = 11,5 mm - 10/11 août = 14,9 mm) semblent avoir assuré l'essentiel des contaminations. Compte tenu de ces conditions, l'efficacité des produits est difficile à mettre en évidence. Le niveau d'attaques dans les témoins est resté très faible (8 % pour le RUBIGAN et 12,8 % pour le PELTAR).

Lors du comptage du 28/08, un classement par gravité d'attaque a été effectué (voir le tableau Annexe I).

PARTIE III

ETUDES DE LABORATOIRE

I. SYMPTOMATOLOGIE

1. OBSERVATIONS MACROSCOPIQUES

1.1. SUR TIGES

- Manchon nodal ovale de couleur brun foncé qui progresse à la fois vers la partie supérieure et inférieure de la tige.
- Progression vers la moëlle qui est découpée en strates transversales, puis striée longitudinalement jusqu'à la destruction totale des tissus internes.

1.2. SUR FEUILLES

- Nécroses brunes triangulaires aux extrémités des nervures principales. Progression le long des nervures jusqu'au pétioles, précédée par une zone chlorotique jaunâtre marquant très probablement l'avancée d'une toxine.
- Le pétiole atteint, la feuille se dessèche et reste attachée à la tige. Plus tardivement, la partie supérieure de la plante se dessèche, la tige peut verser par cassure lors de vent violent.

Confusions possibles avec d'autres pathogènes

Il est à noter que les symptômes du Phomopsis peuvent varier légèrement. On peut observer, notamment sur tige, un halo plus sombre autour de la tache ou un blanchiment central. Sur les feuilles, la sénescence naturelle et les conditions de sécheresse de cette année peuvent occasionner certaines confusions.

Il est possible de discriminer le Phomopsis d'autres pathogènes à partir des critères suivants :

- . Sclerotinia : - tache brune plus claire
- présence de sclérotés dans la tige.
- . Macrophomina : - tige brune au niveau du collet
- moëlle stratifiée également, mais envahie de microsclérotés.
- . Phoma oleracea : - taches nodales plutôt triangulaires et plus noires que celles de Phomopsis. La moëlle reste intacte.

2. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES

Sur résidus de culture de tournesol 1985 :

- Périthèces à coque noirâtre, plus ou moins enfoncées dans les tissus superficiels.
- Présence d'un miellat verdâtre à l'intérieur du périthèce, renfermant des asques allongées à 8 ascospores hyalines, bicellulaires.

Les périthèces sont les formes de conservation hivernale et émettent, dans certaines conditions, les ascospores responsables des contaminations primaires.

II. EPIDEMIOLOGIE

1. MATURATION DES PERITHECES

1.1. METHODE DE DESINFECTION

Afin d'éviter le développement de nombreux saprophytes gênant l'observation, il convient de :

- rincer à l'eau
- frotter à l'eau de Javel diluée à 1 %
- rincer à l'eau.

Tous les essais suivants sont désinfectés selon cette méthode. Régulièrement, un "Témoin eau seule" est réalisé pour confirmer l'absence d'effet néfaste de la méthode.

1.2. EXPERIMENTATION

- Des fragments de canne, stockés à l'extérieur, sont placés en Boîte de Pétri sur filtre imbibé d'eau distillée, après avoir été désinfectés. Ces fragments sont aspergés d'eau distillée de manière à maintenir les tissus humides. Les boîtes sont conservées à 25°C en laboratoire.
- Parallèlement, un témoin est placé en conditions sèches.
- 4 essais/jour sont réalisés pendant 15 jours. Chaque jour, les périthèces sont observés et l'humidité maintenue.

1.3. RESULTATS : ETAPES DE LA MATURATION

- Gonflement du périthèce dans la première heure qui suit l'humidification.
- Différenciation d'un col dans les 24 h au plus tôt, entre 1 et 4 jours au plus tard, en fonction de l'humidification.
- Allongement du col dès sa différenciation, rapide dans les 3 premiers jours puis plus lent mais pouvant se poursuivre jusqu'à 8 jours. La taille du col peut atteindre 1,5 mm.
- La différenciation du col coïncide avec la maturation des asques à l'intérieur du périthèce. Dans la grande majorité des cas, lorsque le col est bien différencié, percé d'une ostiole, les ascospores sont individualisées à l'intérieur des asques.
- Si l'on ne maintient l'humidité que 48 h, les cols ont un diamètre faible, sont longs, durs et cassants. En humidité continue, les cols sont moins longs et d'un diamètre plus grand.

Remarque

Il est difficile de donner des durées de maturation précises car on constate une grande variabilité dans ces durées.

On peut en conclure une grande hétérogénéité dans les stades de maturité des périthèces situées sur une même canne.

Il est à prévoir, au champ, des vagues successives de contamination correspondant aux arrivées à maturité échelonnées dans le temps.

- L'humidité est le facteur prépondérant. Son action est variable suivant l'état de maturité préalable du périthèce comme cela est montré plus haut.
- La température semble intervenir dans les remontées thermiques du printemps. En laboratoire, la température optimale de maturation se situe entre 20°C et 23°C. Cependant, les exigences thermiques sont faibles car il a été observé des différenciations d'asques et ascospores dès avril-mai. En laboratoire, la température minimale de développement se situe aux environs de 9°C.
- La lumière ne paraît pas avoir d'influence sur la maturation. Les cycles nocturnes doivent être pris en compte dans la comptabilisation des durées d'humectation.

2. PROJECTION DES ASCOSPORES

2.1. EXPERIENCE

Sur les fragments de cannes en Boîte de Pétri sont placées des lames vaselonnées afin que les spores "collent" à la surface.

Ces lames sont examinées au microscope chaque jour et changées régulièrement.

2.2. RESULTATS

Les résultats sont très hétérogènes. On observe ainsi sur les lames :

- . des plages rondes et limitées avec plusieurs couches de spores,
 - . des surfaces importantes sans aucune spore malgré la présence de périthèces mûres en dessous.
- Il est clair qu'il ne s'agit pas d'une projection mécanique. Il y a émission au sommet du col d'un miellat contenant les spores. Ainsi le miellat se colle en "paquet" sur la lame ; les lames placées trop haut, au-dessus des cols, ne reçoivent pas de spores.
 - *L'eau est donc nécessaire à la dissolution du miellat et le vent à la dissémination des spores.*
 - L'émission des spores, en boîte, ne commence pas avant 36 h après le début de la différenciation du col. Elle se poursuit en moyenne 6 jours avec un maximum au troisième jour après le début de la différenciation du col.
 - Sur les tiges non maintenues à l'humidité après passage sous l'eau, aucune émission n'a été observée.

2.3. EN EXTERIEUR

Expérience : cannes de tournesol placées :

- 2 h sous pulvérisation d'eau,
- 2 h plein soleil.

L'alternance pluie fine/plein soleil permet l'émission de spores 12 h après le début de la différenciation du col. Cette émission est favorisée par la succession de contractions-gonflements des tissus.

R E S U M E

Au champ, à partir du moment où la surface foliaire du tournesol permet de maintenir un microclimat humide au niveau du sol, un temps pluvieux durant 48 h en conditions de température favorable devrait permettre la contamination et l'infection.

La persistance d'une humidité importante est prépondérante pour la maturation du périthèce et l'infection de la plante, mais une alternance période humide/période sèche peut être favorable à l'émission des spores.

Il est à noter que les périthèces peuvent stopper leur développement en conditions défavorables, notamment une sécheresse prolongée, sans être rendus stériles. Ils reprennent leur développement ultérieurement.

III - ESSAIS DE CONTAMINATIONS ARTIFICIELLES

1. OBTENTION D'UNE SUSPENSION D'ASCOSPORES

Le protocole suivant a été mis au point après essais de nombreuses méthodes différentes. C'est le plus fiable et celui qui donne les meilleurs résultats.

1.1. PROTOCOLE

- Canes de tournesol 1985 lavées et placées en milieu humide, 4-5 jours à 20-22°C.
- Elimination des cols de périthèces par grattage au scalpel de la surface des canes.
- Mise en agitation des canes, 1 heure dans de l'eau distillée.
- 2 filtrations consécutives sur tamis 20 microns.
- Addition d'un tensio-actif : le Tween.
- Comptage à la cellule de Malassez.

1.2. RESULTATS

- Toutes les suspensions obtenues contiennent entre 100.000 et 400.000 spores/ml
- Plus de 90 % des spores sont mûres.

2. CONTAMINATIONS ARTIFICIELLES

2.1. A PARTIR DE CANNES DE TOURNESOL 1985

Plants de tournesol contaminés en pots au stade B3-B4.

Méthode

Essai 1 - J = 03/07/86
 Irrigation J = 10 mm J+3 = 0
 J+1 = 10 mm J+4 = 20 mm
 J+2 = 0
 J+5 = Mise sous plastique hermétique pendant 24 h

Essai 2 - J = 03/07/86
 Irrigation J = 10 mm J+3 = 0
 J+1 = 20 mm J+4 = 30 mm
 J+2 = 20 mm J+5 = 0
 J+6 = Mise sous plastique hermétique pendant 24 h

Résultats

Essai 1 - Apparition des symptômes le 19/07/86
Durée d'incubation = 16 jours

- Arrêt d'évolution des symptômes au stade "tache non encerclante" le 01/08, soit au 28ème jour.
- Reprise de croissance du parasite le 20/08 et évolution rapide des symptômes (48ème jour).

Essai 2 - Apparition des symptômes le 16/07/86

Durée d'incubation = 13 jours

- Arrêt d'évolution au stade "tache non encerclante-tache encerclante" le 01/08.
- Reprise de croissance du parasite le 20/08.

Les "pots essais" sont placés sous un hangar pendant la durée de l'expérience.

2.2. A PARTIR DE SUSPENSION D'ASCOSPORES PULVERISEE SUR PLANTS

Méthode

- Des suspensions à 200 000 spores/ml sont pulvérisées sur tiges et feuilles. Arrêt de pulvérisation avant d'atteindre le ruissellement.
- On maintient un milieu humide en plaçant un plastique humidifié au-dessus et autour des pots pendant 24 h.

Résultats

Des contaminations ont été réalisées aux stades :

2 feuilles le 22/07 ----> pas de symptômes au 22/08.
Au delà d'un mois, la plante en petit pot dépérit.

4 feuilles le 30/07 ----> symptômes visibles sur feuilles et tiges le 20/08.

Durée d'incubation : 21 jours

En petit pot, la tige étant très fine, l'évolution des symptômes est très rapide.

Cet essai sera utilisé le 28/08 pour les essais de détermination en Boîte de Pétri.

Stade E1-E4 le 21/07 ----> symptômes visibles au 07/08.

Durée d'incubation : 17 jours

2.3. ANALYSE PATHOLOGIQUE

Méthode

- Les tiges contaminées des stades 4 feuilles sont découpées en tronçons de 5 mm environ.
- Désinfectés à l'hypochlorite de sodium 1 %.
- Déposés stérilement en boîte sur Malt-Agar à raison de 3 tronçons/boîte.
- 17 isollements ont été effectués le 28/08/86.

But

- Déterminer si la contamination est bien due au Phomopsis.
- Essayer de produire du Phomopsis en conditions stériles afin d'obtenir des cultures pures par repiquage.

Résultats : lecture le 10/09/86

N° de Boîte de Pétri	Isolements positifs
1	2 sur 3
2	1 sur 3
3	1 sur 3
4	1 sur 3
5	0 sur 3
6	0 sur 3
7	2 sur 3
8	0 sur 3
9	0 sur 3
10	1 sur 3
11	0 sur 3
12	2 sur 3
13	2 sur 3
14	2 sur 3
15	0 sur 3
16	0 sur 3
17	0 sur 3

- Les résultats confirment que la contamination est bien due au *Phomopsis*.
- On observe fréquemment des stylospores (spores bâta) de 20 à 30 microns.

R E S U M E

Les deux méthodes utilisées pour réaliser des contaminations artificielles ont donné des résultats :

- le *Phomopsis* semble ne pas attaquer les plants n'ayant pas encore atteint le stade 4 feuilles.
- les durées d'incubation sont assez courtes, manifestant une évolution rapide du pathogène.
- les arrêts d'évolution peuvent être mis sur le compte des températures importantes des mois de juillet et août. Le pathogène aurait un maximum de développement, à déterminer.
- le sol contenu en pot, riche en terreau, a certainement une influence, par sa teneur en azote importante, sur l'état physiologique des plants de tournesol et pourrait favoriser le développement rapide du pathogène.
- des essais ultérieurs à grande échelle pourraient permettre une analyse statistique de l'expérience.

IV - SCREENING DE PRODUITS SUR MILIEU GELOSE

GERMINATION DES ASCOSPORES

- Sur milieu : . pas de germination sur PDA.
 . très peu de germination sur Malt-Agar.

Mais aucune méthode de désinfection fiable de la suspension n'ayant pu être mise au point, la lecture des boîtes est impossible au delà de 3 jours.

- Dans l'eau : . début de germination observé mais le développement s'arrête très rapidement.

Les essais de screening sont impossibles tant qu'on ne possède pas une culture stérile de *Phomopsis*. Les isollements effectués comme précédemment pourraient ultérieurement permettre des screening sur la forme conidienne de contamination secondaire. En effet, il semble très difficile d'effectuer un screening sur la forme ascosporee.

CONCLUSION

Dès l'apparition des conditions de température et d'humidité favorables au printemps, les formes de conservation hivernales entrent en activité et le tournesol est soumis à des vagues de contaminations successives pouvant se poursuivre jusqu'à la fin de l'été.

Au vu des pourcentages d'infection au champ en 1986, malgré les conditions de stress hydrique, il serait nécessaire d'étudier le pathogène en condition de sécheresse au laboratoire.

On peut supposer que la contamination est aussi possible par des fragments de miellat secs, légers, renfermant des ascospores, et facilement transportés. La dissolution intervenant une fois le plant atteint.

L'infection ayant eu lieu, une vingtaine de jours au minimum serait nécessaire à l'apparition des symptômes.

La forme conidienne qui se développe alors est susceptible de provoquer des contaminations secondaires par les spores alpha non isolées dans nos expériences. Cette partie du cycle est à étudier de plus près ultérieurement.

Aucune conclusion définitive ne peut être tirée des essais de contaminations artificielles. Ces essais sont à reproduire à plus grande échelle pour permettre une analyse statistique fiable.

Pour les screening de produit sur milieu gélosé, un protocole de désinfection des suspensions d'ascospores est à mettre en place afin d'éliminer les nombreux saprophytes et bactéries qui contaminent la solution. La forme conidienne pourrait toutefois offrir des débouchés intéressants.

GRAVITE DE L'ATTAQUE SUR TIGE

Légende

TNE = Tache non encerclante
TE = Tache encerclante
TB = Tige brune
TC = Tige cassée

Comptage du 28/08/86

Traitement	Nombre de pieds atteints				Total de pieds		
	TNE	TE	TB	TC	Touchés	Sains	%
P E L T A R							
T1	0	2	0	0	2	218	0,9
T2	0	0	5	0	5	229	2,2
T3	1	1	1	0	3	206	1,45
T4	0	7	5	0	12	221	5,4
T5	4	5	5	0	14	226	6,2
T6	0	4	9	0	13	212	6,1
Témoin	5	11	10	0	26	203	12,8
R U B I G A N							
T1	0	0	0	0	0	180	0
T2	1	2	3	0	6	204	2,9
T3	1	1	4	1	7	180	3,8
T4	3	2	0	0	5	236	2,1
T5	0	2	3	0	5	208	2,4
T6	1	0	4	0	5	209	2,4
Témoin	4	6	6	0	16	198	8,1

